

天然甜菜红色素的稳态化及其应用

魏先领^{1,2}, 胡梓晴^{1,2}, 陈文田³, 丁志昆³, 陈奕东⁴, 杨应楷⁴, 伍雯静^{1,2}, 徐涵^{1,2}, 董浩^{1,2*}, 白卫东^{1,2*}
(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)(2. 仲恺农业工程学院现代农业工程创新研究院, 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室, 农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室, 广东广州 510225)(3. 珠海雅富兴源食品工业有限公司, 广东珠海 519015)
(4. 广东济公保健食品有限公司, 广东潮州 515600)

摘要: 该研究以甜菜红色素为对象, 采用稳定剂复配、涂膜和微胶囊包埋的方法逐步提高甜菜红色素的热稳定性, 并将其应用于面饼上考察其实际应用效果。结果表明: 在 90 ℃加热 20 min 后, “添加抗坏血酸+海藻酸钠组”的甜菜红色素热稳定性最高, 加热后的色素保留率为 66.23%; 制备海藻酸钠-钙离子膜, 通过隔绝水分和氧气提高甜菜红色素在面饼上的热稳定性, 发现经 100 ℃沸水蒸煮 12 min 后色差值 ΔE 为 16.96; 最后, 以抗坏血酸和海藻酸钠为复配稳定剂, 海藻酸钠-钙离子膜为隔水隔氧保护膜, 通过外源乳化法制得负载甜菜红色素微胶囊, 加热后(100 ℃, 12 min)色素保留率为 68.13% 及其色差值 ΔE 为 12.86, 发现该微胶囊对色素的保护效果较好。因此, 该研究通过抗氧化剂-多糖复合、涂膜技术和微胶囊技术, 从水溶液到微胶囊颗粒, 全面提高了甜菜红色素的热稳定性并将其应用于面饼制品中, 对天然色素的开发和利用具有重要意义。

关键词: 甜菜红色素; 抗氧化剂; 多糖; 热稳定性; 微胶囊; 应用

文章编号: 1673-9078(2025)09-233-243

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0935

Stabilization and Application of Natural Betanin

WEI Xianling^{1,2}, HU Ziqing^{1,2}, CHEN Wentian³, DING Zhikun³, CHEN Yidong⁴, YANG Yingkai⁴,
WU Wenjing^{1,2}, XU Han^{1,2}, DONG Hao^{1,2*}, BAI Weidong^{1,2*}

(1.College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)(2.Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Academy of Contemporary Agricultural Engineering Innovations, Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510225, China)(3.Zhuhai Yafuxingyuan Food Industry Co. Ltd., Zhuhai 519015, China)(4.Guangdong Jigong Health Food Co. Ltd., Chaozhou 515600, China)

Abstract: The thermal stability of betanin was gradually improved by composite stabilizer addition, membrane coating and microencapsulation, and its actual application performance was subsequently evaluated on flatbread. The results showed

引文格式:

魏先领,胡梓晴,陈文田,等.天然甜菜红色素的稳态化及其应用[J].现代食品科技,2025,41(9):233-243.

WEI Xianling, HU Ziqing, CHEN Wentian, et al. Stabilization and application of natural betanin [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 233-243.

收稿日期: 2024-07-02; 修回日期: 2024-09-09; 接受日期: 2024-09-13

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2022B0202040001); 企业横向项目(D123207D2); 企业横向项目(D121207D0AA)

作者简介: 魏先领(1991-), 男, 博士, 特聘副教授, 研究方向: 色素加工, E-mail: xianlingwei@foxmail.com

通讯作者: 董浩(1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然色素, E-mail: donghao@zhku.edu.cn; 共同通讯作者: 白卫东(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工, E-mail: weidong_bai2010@163.com

that betanin exhibited enhanced thermal stability following the addition of ascorbic acid and sodium alginate after heating at 90 °C for 20 min; the retention rate reached 66.23%. Furthermore, a sodium alginate-calcium ion membrane was prepared to prevent exposure of betanin to water and oxygen to enhance the thermal stability of betanin on flatbread. The color difference value of flatbread with betanin was 16.96 after steaming at 100 °C for 12 min. Finally, by using ascorbic acid and sodium alginate as composite stabilizers and the sodium alginate-calcium ion membrane as a protective membrane against water and oxygen, betanin-loaded microcapsules were prepared through external emulsification. After heating (at 100 °C for 12 min), the retention rate of betanin and color difference value were 68.13% and 12.86, respectively, indicating that the microcapsules protected betanin. Therefore, the proposed method may improve the thermal stability of both aqueous and microencapsulated betanin through antioxidant-polysaccharide effects, membrane coating, and microencapsulation. In addition, betanin was applied in flatbread products. These findings are vital for the development and utilization of natural pigments.

Key words: betanin; antioxidant; polysaccharide; thermal stability; microcapsule; application

甜菜红色素是一种从甜菜根、火龙果和苋菜等植物中提取的天然水溶性色素，其来源广泛、安全健康，且具有抗氧化、抗癌和抗病毒等生理活性^[1-3]。随着人们对食品健康等方面的关注，消费者更倾向于选择天然绿色的食品，因此天然色素比合成色素更具有发展潜力。然而，天然甜菜红色素因其自身结构缺陷，易受温度和光照等因素影响，导致其稳定性差，严重限制其应用和发展^[4]。目前，已有学者对提高天然色素稳定性开展了系统研究，主要有络合稳定剂和微胶囊包埋等方法。例如，Khan 等^[5]利用不同种类金属离子与不同质量浓度抗坏血酸结合，发现抗坏血酸+硒组能使甜菜红素的半衰期延长 5 倍。Zhao 等^[6]利用大豆分离蛋白纤维与甜菜红色素，通过疏水相互作用结合形成配合物，通过改变色素基团的微环境使其保留率提高到了 75.90%。因此，通过添加酸类或多糖能提高甜菜红色素稳定性，但这些物质之间协同稳定的研究较少，而且只应用在溶液体系，对于固体体系的应用并未考虑。

在面饼应用中，若简单地将甜菜红色素配成溶液上色于面饼上，经过蒸煮后发现颜色损失严重。因此，利用包埋技术，将其与外界环境隔绝，减小外界因素对芯材的破坏，提高活性物质的稳定性^[7]。为了实现这个目标，通过涂膜的方式，制备一层透明的可食用膜，考察涂膜试剂和涂布方式对外界环境的隔绝效果，选择最优的包埋膜，进一步将该膜微小化，制成微胶囊，实现更广泛的应用。此外，在微胶囊的制备方法中，虽然喷雾干燥方法能降低水分活度，提高芯材稳定性。但是，高温干燥却使色素部分活性和色泽丧失^[8]。相比之下，采用乳液包埋的制备过程温度较低，能够避免高温对甜菜红色素的破坏^[9]。Petzold 等^[10]通过外源乳法制备 W/O

型乳液后，利用钙离子固化水相的海藻酸钠，从而形成包埋了活性物质的微胶囊，结果表明具有热不可逆性的海藻酸钠-钙离子网络作为壁材，能够较好地解决高温体系引起活性物质降解的问题^[11]。然而，在高水分活度和高温环境下的食品体系（面饼制品）中，包埋甜菜红色素微胶囊的应用研究较少报道。

基于此，本研究利用多种酸类化合物（抗坏血酸、没食子酸和柠檬酸）和多糖（海藻酸钠、糊精和壳聚糖）复配，提高甜菜红色素在水溶液体系中的热稳定性，并且通过涂布面饼方法，探究影响甜菜红色素热稳定性的因素（热、氧气和水分）以及涂膜技术对影响热稳定性因素的改善效果。最后，采用外源乳法制备包埋甜菜红色素的海藻酸钠-钙离子微胶囊，进一步探究色素的包埋、稳定及其在面饼制品中的应用效果，以期拓展甜菜红色素的应用和促进天然色素产业的发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

材料：甜菜红色素，由珠海雅富兴源食品工业有限公司提供，型号为 111109，特征吸收峰在波长 527 nm。

试剂：抗坏血酸、没食子酸、无水柠檬酸、氯化钙（二水）、无水乙醇，国药集团化学试剂有限公司；海藻酸钠、糊精、壳聚糖、中链甘油三酯、司班 80，上海阿拉丁生化科技股份有限公司。上述试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司；PB-10 Sartorius 普及型

pH 值计, 赛多利斯科学仪器北京有限公司; HH-6 数显恒温水浴锅, 常州国华电器有限公司; FJ200-S 数显高速均质机, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; CR-400 色彩色差计, 柯尼卡美能达(中国)有限公司; 85-2 数显控温磁力搅拌器, 常州市金坛大地自动化仪器厂; GM-1.0A 隔膜真空泵, 天津市津腾实验设备有限公司; DHG-9023A 电热恒温鼓风干燥箱, 上海喆钛机械制造有限公司; C22-RT22E01 电磁炉, 美的集团股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 不同pH值下甜菜红色素溶液的吸光值测定

1 mg/mL 的甜菜红溶液用 1 mol/L HCl 或 NaOH 调节 pH 值为 3~13, 紫外-可见分光光度计测定其在 527 nm 和 410 nm 波长下的吸光值。

1.3.2 稳定剂对甜菜红色素热稳定性的影响研究

研究不同稳定剂对甜菜红热稳定性的影响, 稳定剂种类为酸类化合物(抗坏血酸、没食子酸和柠檬酸), 多糖(海藻酸钠、糊精和壳聚糖)。按表 1 将 1 mg/mL 的甜菜红色素与 0.5 mg/mL 的稳定剂混合(复配比例为 1:0.5 或 1:0.5:0.5, *m/m*)并定容至 10 mL, 在水浴锅 90 ℃下避光加热 20 min, 立即用流动的自来水冷却并稀释 5 倍后, 在波长 527 nm 处测定其吸光值。其中, pH 值≈ 4.0 的醋酸缓冲溶液由 41 mL 的 0.2 mol/L 的醋酸溶液和 9 mL 的 0.2 mol/L 的醋酸钠溶液混合, 定容至 1 L 容量瓶内作为溶剂。另外, 通过甜菜红色素标准曲线计算加热前后的色素质量浓度, 进而计算色素保留率, 保留率公式如下:

$$R = \frac{C_1}{C_0}$$

(1)

式中:

- R ——甜菜红色素保留率, %;
- C_1 ——加热后色素溶液质量浓度, mg/mL;
- C_0 ——加热前色素溶液质量浓度, mg/mL。

1.3.3 甜菜红色素在面饼上的热稳定性研究

1.3.3.1 面饼上的色差测定方法

为了便于用色差计测量, 以涂布的方式上色。具体实验方法: 取相同体积的色素溶液涂布于面饼, 将面饼放入蒸锅内 100 ℃沸水蒸煮 12 min。待面饼上的水分晾干后, 测量 L^* 、 a^* 和 b^* 表示样品的颜色^[12,13]。色差值 ΔE 是指样品在蒸煮前、后颜色的

变化程度, 计算公式如下:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

(2)

式中:

ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* ——分别是蒸煮前后样品的 L^* 、 a^* 、 b^* 的差值。

表 1 稳定剂组设计

Table 1 Compound design of stabilizer groups		
单个稳定剂	两个稳定剂复配	
抗坏血酸	抗坏血酸 + 海藻酸钠	柠檬酸 + 海藻酸钠
没食子酸	抗坏血酸 + 糊精	柠檬酸 + 糊精
柠檬酸	抗坏血酸 + 壳聚糖	柠檬酸 + 壳聚糖
海藻酸钠	没食子酸 + 海藻酸钠	—
糊精	没食子酸 + 糊精	—
壳聚糖	没食子酸 + 壳聚糖	—

1.3.3.2 甜菜红色素试验质量浓度的确定

为了探究合适的甜菜红色素涂布面饼的质量浓度, 将质量浓度为 5~14 mg/mL 的甜菜红色素溶液, 分别取 0.5 mL 用涂布棒均匀涂布于面饼上, 测定面饼蒸煮前后的色差值 ΔE 。

1.3.3.3 影响甜菜红色素热稳定性的因素研究

在避光情况下, 将已涂布色素的面饼分别常规方式蒸煮(1号)、加水蒸煮(在密封容器内加一定量的水蒸煮, 2号)、充氧蒸煮(在充氧的密封袋内蒸煮, 3号)、真空蒸煮(在真空的密封袋内蒸煮, 4号), 测定面饼蒸煮前后的色差值 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 。

1.3.3.4 涂膜方式对甜菜红色素热稳定性的影响研究

采用不同的涂膜工艺, 按照 1.3.3.2 的涂布方法, 具体涂布溶液如下: 1号 1 mg/mL 甜菜红色素溶液; 2号 1 mg/mL 甜菜红色素、0.5 mg/mL 抗坏血酸和 0.5 mg/mL 海藻酸钠的混合溶液; 3号 1 mg/mL 甜菜红色素上色后, 表面再涂 0.5 mL 大豆油; 4号 1 mg/mL 甜菜红色素、0.5 mg/mL 抗坏血酸和 0.5 mg/mL 海藻酸钠的混合溶液上色后, 表面再涂 0.5 mL 大豆油; 5号 1 mg/mL 甜菜红色素溶液上色后, 表面再涂 0.5 mL 的 20 mg/mL 海藻酸钠, 并喷撒 5 mg/mL 氯化钙溶液; 1 mg/mL 甜菜红色素、0.5 mg/mL 抗坏血酸和 0.5 mg/mL 海藻酸钠的混合溶液上色后, 表面再喷撒 5 mg/mL 氯化钙溶液。测定甜菜红色素在面饼上蒸煮前后的色差值 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE , 主要比较海藻酸钠-钙离子凝胶膜和大豆油膜, 以及是否添加抗坏血酸和海藻酸钠复合稳定剂。

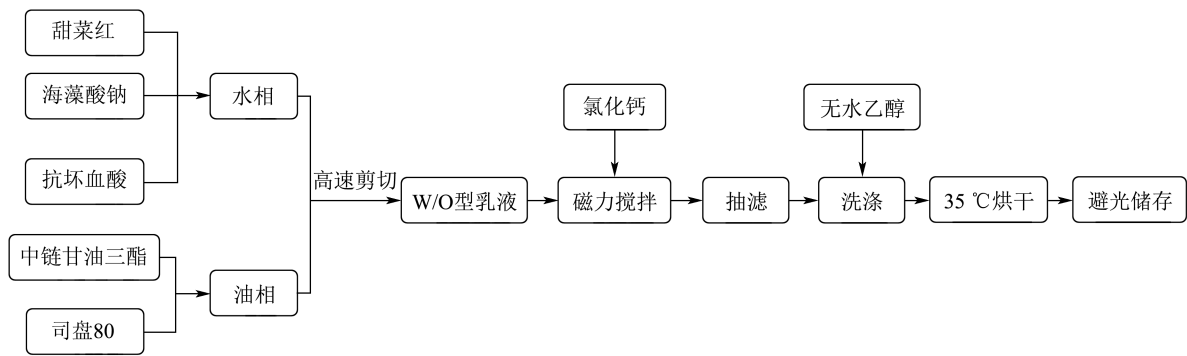


图 1 外源乳化法制备负载甜菜红色素的微胶囊流程图

Fig.1 Flow chart of microcapsules loaded with betanin prepared by external emulsification

1.3.4 外源乳化法制备负载甜菜红色素的微胶囊

1.3.4.1 制备方法

利用外源乳化法^[14,15]制备负载甜菜红色素的微胶囊，具体实验步骤见图 1。

W/O 型乳液制备：以 1 g 抗坏血酸+100 mg 甜菜红色素+15 mL 3% 海藻酸钠混合后作为水相，35 mL 含有 1.5% 司盘 80 的中链甘油三酯作为油相，油水混合后用高速剪切机在 11 400 r/min 乳化 4 min；

钙离子固化：取上述乳液样品在 2 500 r/min 磁力搅拌 30 min，并以 10 μL/s 的速度逐滴滴加 5 mL 含有 1.8 g 氯化钙+0.3 g 抗坏血酸的醋酸缓冲溶液，以逐渐固化海藻酸钠内水相；

分离和洗涤：待凝胶成型后，抽滤分离微胶囊颗粒与液体，并用 15 mL 无水乙醇洗涤微胶囊，除去多余的中链甘油三酯；

储存：25 °C 避光放置 15 h 挥发乙醇后，在 35 °C 下鼓风干燥 10 h，最后避光保存。

1.3.4.2 微胶囊中色素包埋率的测定

将抽滤分离（1.3.4.1 微胶囊制备步骤）后的滤液静置分层，测定下层色素溶液的体积和吸光值，代入标准曲线得到其质量浓度，计算出未包埋色素量，即微胶囊中色素包埋率。

$$B = \frac{m_0 - C_2 V_2}{m_0}$$

(3)

式中：

- B——甜菜红色素包埋率（EE），%；
- C₂——下层色素溶液的质量浓度，mg/mL；
- V₂——下层色素溶液的体积，mL；
- m₀——添加的色素质量，mg。

1.3.4.3 微胶囊加热后色素保留率测定

色差法：称 0.1 g 负载甜菜红色素的微胶囊均匀撒在面饼或倒扣的培养皿表面，使用色差仪测定其

蒸煮前后的色差值 L*、a*、b* 和 ΔE。

复水溶出法：把蒸煮前后 0.1 g 的负载甜菜红色素的微胶囊置于玻璃管中，加入 5 mL 醋酸缓冲溶液，室温下避光浸泡 3 h，即可将微胶囊内全部的甜菜红色素溶出并测定其吸光值，通过标准曲线计算得到微胶囊加热前后的色素保留率。

1.4 数据处理方法

在面饼测定色差值的试验中，在相同实验条件下，设置了 3 个重复面饼组，对于需要测定蒸煮前后的色差值的面饼，选取色素涂布均匀的位置，并标记蒸煮前测定的位置，在蒸煮后也测定同样的位置，避免由于测定位置不同造成的误差。另外，本实验使用 SPSS 26、Origin 2019 软件对实验数据进行统计分析与绘图，并用 Duncan 法进行方差分析，不同字母表示组间存在显著性差异（P<0.05）。

2 结果与分析

2.1 不同pH值对甜菜红色素稳定性的影响

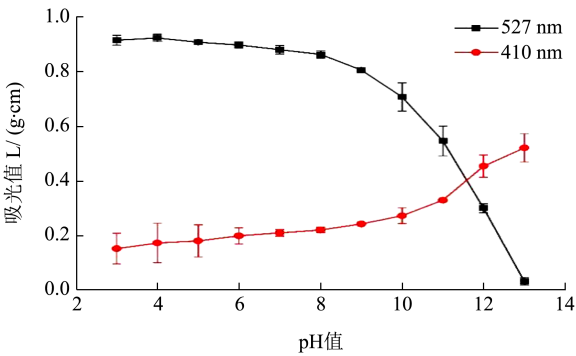


图 2 在波长 527 nm 和 410 nm 下，甜菜红色素溶液的吸光值（pH 值 3~13）

Fig.2 The absorption of the betanin solution at the wave length of 527 nm and 410 nm (pH value 3~13)

为了探究不同 pH 值下甜菜红分子结构的变化,测定甜菜红和甜菜醛氨酸特征波长(527 nm 和 410 nm)下吸光值的变化^[16,17]。如图 2 所示,在甜菜红的特征波长 $\lambda_{\max}=527$ nm 下,其吸光值随 pH 值增大呈现先升高后降低趋势且在 pH 值 4 时最高。另外,在甜菜醛氨酸(甜菜红降解产物)的特征波长 $\lambda_{\max}=410$ nm 下,溶液的吸光值随 pH 值增大不断升高^[18]。表明:在 pH 值 3~8 范围内甜菜红色素相对稳定,但在强碱条件下(pH 值 9~13)甜菜红色素分子结构中的双键或羧基等基团被破坏,导致其快速降解生成甜菜醛氨酸^[19]。综上所述,甜菜红色素在 pH 值 4 下最稳定,后续的实验使用 pH 值 4 的醋酸缓冲溶液作为甜菜红色素溶剂。

2.2 稳定剂对甜菜红色素热稳定性的影响

2.2.1 添加单个稳定剂

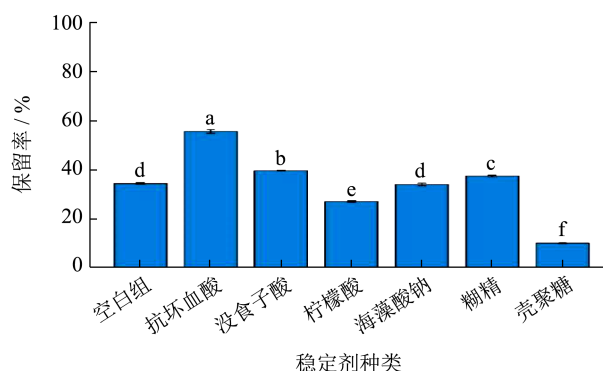


图 3 添加酸类化合物或多糖的甜菜红色素溶液
热处理后的保留率

Fig.3 Retention rate of betanin solution with acid compounds
or polysaccharides after heat treatment

注:不同字母分别表示不同的数据间差异显著($P<0.05$)。图 4 同。

本实验选择酸类化合物或多糖添加到甜菜红色素溶液中,探究不同酸类化合物(多酚和有机酸)和多糖(阴离子、中性和阳离子)对甜菜红热稳定性的影响。如图 3 所示,对于酸类化合物,抗坏血酸对提高甜菜红色素的热稳定效果最好(55.54%),其原因是抗坏血酸的烯二醇基能结合水中的氧化剂,其被氧化成二酮基并解离出氢离子^[20],从而降低氧化物质对甜菜红分子中醛亚胺键的破坏^[21]。Attoc 等^[22]通过测定消耗 O_2 和甜菜红色素的含量证实了氧参与甜菜红色素的降解,证明了抗坏血酸和异抗坏血酸能通过除氧来增强甜菜红色素的稳定性,与本实验结果一致。与抗坏血酸相比,没食子

酸和柠檬酸的改善效果较差(39.59%和 27.06%)。对于没食子酸,Khan 等^[23]证明了没食子酸等对色素稳定作用不大,与本实验结果一致。此外,有研究指出柠檬酸可通过螯合作用来稳定甜菜红 N-1 位置的极性^[24],而本研究中柠檬酸对甜菜红热稳定改善效果不好,其原因是在酸性和加热的条件下,柠檬酸容易水解,生成二氧化碳和水,使溶液体系 pH 值过低,降低色素稳定性(图 2)。另一原因是柠檬酸中含有三个羟基和一个羧基,可以与甜菜红的发生多种反应,如柠檬酸的羟基作为亲核试剂,使甜菜红分子中的共轭双键断裂;也可以与甜菜红分子的羧基反应,形成之间酯键,改变甜菜红的结构。

另外,相比于通过抗氧化剂改善外部微环境的方式,多糖(海藻酸钠、糊精和壳聚糖)则是通过以下方式改善其热稳定性:(1)线性结构的多糖空间位阻较小,能提供较多的氢键结合位点,很好地络合稳定甜菜红^[25];(2)具有空间结构的糊精则可通过包封稳定甜菜红色素^[26,27];(3)多糖还能降低体系中的水分活度,减少水分对甜菜红的破坏^[28]。如图 3 所示,3 种不同结构的多糖,糊精对甜菜红保留率最高(37.40%),但与空白组(34.37%)相比稳定性提高程度不大,表明了单独添加多糖不能很好的提高甜菜红色素的热稳定性。值得注意的是,壳聚糖处理的甜菜红色素保留率最低(10.10%),其原因是:在热处理下甜菜红水解成甜菜醛氨酸和环多巴衍生物^[29],而壳聚糖是天然阳离子多糖,其分子链上分布着大量游离氨基,氨基化合物不仅会加速甜菜红的醛亚胺键断裂^[21],而且会与环多巴衍生物竞争结合甜菜醛氨酸从而形成甜菜黄素^[24]。综上所述,在添加单个稳定剂中,抗坏血酸的效果最好。

2.2.2 复配稳定剂

将酸类化合物和多糖进行复配实验,探究二者共存对甜菜红色素热稳定性的影响(图 4)。对于三种酸类化合物,“抗坏血酸+多糖”的复配组合的色素保留率最好,其次是“没食子酸+多糖”和“柠檬酸+多糖”,该结果与图 3 一致,说明起稳定作用的主要是酸类而非多糖。另外,在抗坏血酸+多糖组合中,甜菜红保留率由高到低为阴离子多糖(海藻酸钠)>中性多糖(糊精)>阳离子多糖(壳聚糖)。与空白组(34.37%)相比,抗坏血酸+海藻酸钠(66.23%)和抗坏血酸+糊精(54.53%)组合能显著提高甜菜红稳定性,说明复配稳定剂能达

到协同增效的作用。这是由于海藻酸钠为阴离子多糖^[30]，能与甜菜红形成离子型复合物^[31,32]。Marchuk等^[25]利用 QCM-D 探究多种多糖与甜菜红的结合强弱，发现与果胶和阿拉伯胶相比，海藻酸钠和黄原胶结合甜菜红的能力更强。此外，糊精是中性多糖，其倾向于建立分子内和分子间氢键，与水相互作用弱，导致体系中水分活度较大，甜菜红易被破坏^[33]。综上所述，甜菜红色素热稳定性最高的复配组是抗坏血酸+海藻酸钠（66.23%）。因此，接下来以此复配稳定剂组合为基础，将甜菜红色素应用于面饼中，探究色素的热稳定性与改善方法。

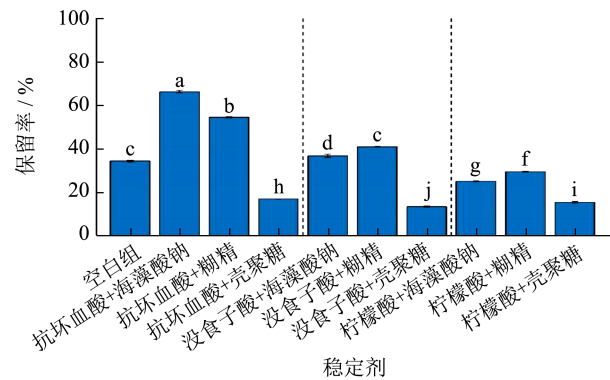


图 4 添加酸类化合物与多糖的复配稳定剂对甜菜红色素溶液热处理后保留率的影响

Fig.4 Retention rate of betanin solution with acid compounds and polysaccharides after heat treatment

2.3 甜菜红色素在面饼中的应用

2.3.1 甜菜红色素质量浓度梯度分析

为了探究合适涂布在面饼上甜菜红溶液的质量浓度，用 ΔE 表示面饼在蒸煮前后的颜色变化程度。发现：随着甜菜红的质量浓度逐渐增加，蒸煮后面

饼甜菜红色泽加深（图 5）； ΔE 随着色素质量浓度的升高逐渐减小（表 2），与图 5 的结果一致。当加热温度和时间不变（降解和破坏色素的程度不变）时，甜菜红质量浓度越高颜色越深，表现出蒸煮后颜色损失减小。另外，在 11~12 mg/mL 质量浓度时， ΔE 没有显著差异；并且当 ΔE 越小，越难以判断稳定剂对甜菜红是否存在保护效果，不利于后续实验的开展。然而，在实际的应用中，若甜菜红色素质量浓度过低，则不能达到产品的色度要求，质量浓度过高颜色则会偏暗，不符合产品外观颜色且浪费资源。所以，综合以上各种考虑，后续实验选择甜菜红溶液质量浓度为 10 mg/mL。

2.3.2 影响甜菜红色素热稳定性的因素分析

由于甜菜红色素易受光照、温度、 O_2 、酶及微生物等因素的影响，使甜菜红发生了醛亚胺键断裂、脱氢、脱糖基化、脱羧和异构化等反应生成异甜菜苷、环多巴 -5-O- 葡萄糖苷或脱羧甜菜苷，最终导致其稳定性降低^[21]。本研究将涂有色素的面饼放置在不同的蒸煮环境中，探究不同环境因素对甜菜红在面饼上的影响，为后续应用奠定基础。发现：蒸煮后，B₁ 到 B₄ 面饼的颜色逐渐加深，说明了甜菜红降解程度不断减弱（图 6）。另外， ΔE_4 （真空蒸煮）< ΔE_3 （充氧蒸煮）< ΔE_2 （加水蒸煮）< ΔE_1 （常规蒸煮）， ΔE 越小表明涂有甜菜红的面饼蒸煮前后颜色变化越小，其热稳定性越高（表 3）。因此，在不同蒸煮环境中，影响甜菜红色素热稳定的因素由大到小是：水分 > 氧气。综上所述，在后续的色素加工应用中，应尽可能的隔绝水分和氧气，有目的地优化稳定方法，从而提高甜菜红色素在面饼制品中的保留率。

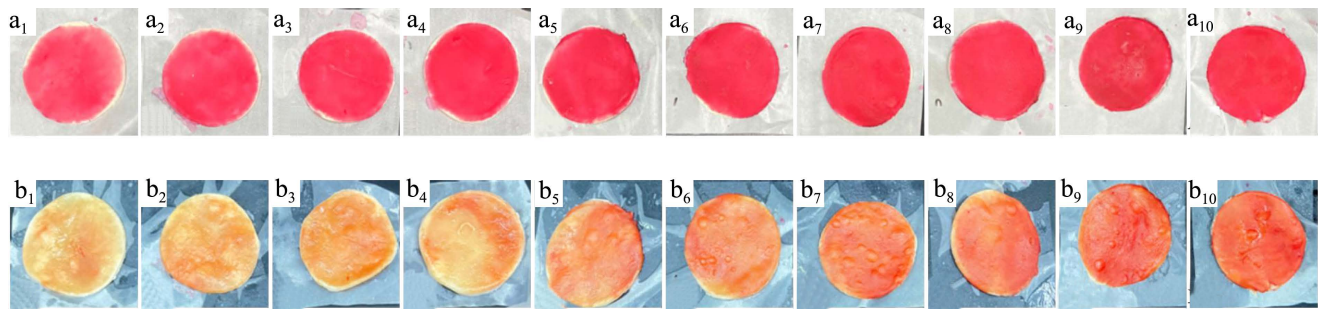


图 5 不同质量浓度的甜菜红色素溶液涂抹的面饼

Fig.5 Flatbread coated with betanin solution with different mass concentrations

注：（a）蒸煮前；（b）蒸煮后；下标 1~10：质量浓度 5~14 mg/mL。

表 2 不同质量浓度的甜菜红色素溶液在面饼上的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 值

Table 2 The L^* , a^* , b^* and ΔE values of betanin solution on flatbread with different mass concentrations					
色素质量浓度/ (mg/mL)	测量时间	L^*	a^*	b^*	ΔE
5	蒸前	48.38 ± 1.81	46.70 ± 1.23	9.77 ± 0.70	39.09 ± 0.90 ^a
	蒸后	54.74 ± 1.45	12.44 ± 0.71	27.19 ± 0.60	
6	蒸前	45.19 ± 0.36	49.72 ± 0.40	13.32 ± 0.43	36.76 ± 2.16 ^a
	蒸后	54.85 ± 0.63	17.95 ± 3.11	28.76 ± 1.50	
7	蒸前	43.72 ± 0.64	50.57 ± 0.53	14.21 ± 0.54	35.08 ± 0.95 ^{ab}
	蒸后	51.09 ± 0.30	19.20 ± 1.40	27.95 ± 1.74	
8	蒸前	41.61 ± 1.23	50.65 ± 0.41	16.14 ± 0.91	36.88 ± 5.48 ^a
	蒸后	51.67 ± 3.88	16.57 ± 4.42	25.57 ± 0.82	
9	蒸前	40.41 ± 0.59	50.58 ± 0.38	16.52 ± 0.38	30.75 ± 0.26 ^{bc}
	蒸后	49.56 ± 0.83	24.39 ± 0.94	29.72 ± 0.91	
10	蒸前	40.34 ± 0.55	49.50 ± 0.17	16.15 ± 0.49	29.49 ± 0.87 ^{cd}
	蒸后	48.83 ± 0.89	24.26 ± 1.78	28.57 ± 1.30	
11	蒸前	38.27 ± 0.47	49.28 ± 0.71	17.70 ± 0.43	24.39 ± 1.60 ^c
	蒸后	46.83 ± 1.96	29.15 ± 1.03	28.39 ± 0.83	
12	蒸前	38.24 ± 1.28	48.70 ± 0.33	16.64 ± 1.44	24.77 ± 2.60 ^c
	蒸后	47.42 ± 1.74	29.46 ± 1.58	29.07 ± 1.64	
13	蒸前	38.04 ± 0.48	49.50 ± 0.13	18.39 ± 0.71	17.17 ± 0.45 ^f
	蒸后	43.12 ± 0.61	35.80 ± 0.22	27.38 ± 0.25	
14	蒸前	36.17 ± 0.45	48.56 ± 0.18	19.77 ± 0.56	18.73 ± 2.45 ^f
	蒸后	44.82 ± 1.68	34.33 ± 1.53	28.14 ± 1.64	

注：不同字母分别表示同一列数据间差异显著（ $P<0.05$ ）。表 3、4 同。

表 3 不同蒸煮方式下甜菜红色素在面饼上的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 值

Table 3 The L^* , a^* , b^* and ΔE values of betanin on flatbread under different cooking methods						
序号	蒸煮方案	测量时间	L^* 值	a^* 值	b^* 值	ΔE
1	常规蒸煮	蒸前	38.63 ± 0.87	48.38 ± 0.64	14.59 ± 0.94	26.84 ± 1.59^a
		蒸后	49.00 ± 1.96	30.72 ± 0.58	31.79 ± 0.59	
2	加水蒸煮	蒸前	38.29 ± 0.25	48.22 ± 0.09	15.55 ± 0.34	20.10 ± 0.57^b
		蒸后	46.07 ± 0.86	32.96 ± 0.71	25.96 ± 0.73	
3	充氧蒸煮	蒸前	37.91 ± 0.27	47.35 ± 0.12	15.32 ± 0.44	16.79 ± 0.49^c
		蒸后	42.08 ± 1.03	33.66 ± 0.14	24.06 ± 0.95	
4	真空蒸煮	蒸前	40.70 ± 0.85	48.56 ± 0.78	14.39 ± 0.26	11.64 ± 1.17^d
		蒸后	40.61 ± 1.00	37.10 ± 0.56	13.38 ± 1.10	

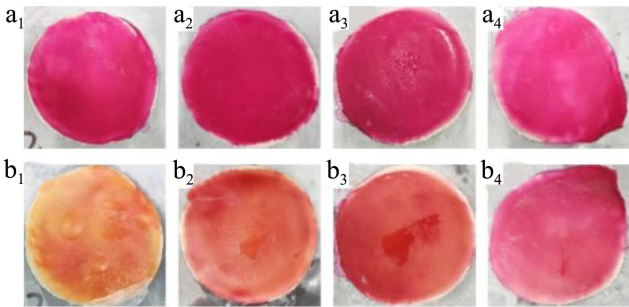


图 6 不同蒸煮方式下甜菜红色素在面饼上的外观

Fig.6 Appearance of betanin on flatbread under different cooking methods

注: (a) 蒸煮前; (b) 蒸煮后; 下标 1~4: 不同蒸煮方式。

2.3.3 涂膜方式对甜菜红色素热稳定性的影响分析

为了解决食品保鲜的问题, 防水防潮的可食膜应运而生。借鉴食品包装保鲜这一概念, 利用可食膜达到隔绝外界因素(水分和氧气)的影响, 以提高甜菜红色素的热稳定性。基于此, 选择海藻酸钠和钙离子通过离子键形成的热不可逆凝胶膜^[10,34],

将该膜涂布在面饼上, 以 ΔE 为测定指标, 评价不同的涂膜方式的稳定效果。如图 7 所示, b_4 面饼蒸煮后的颜色最深, 甜菜红色素的保留率最高; b_3 颜色损失最大; 从表 4 得出: $\Delta E_4 < \Delta E_6 < \Delta E_2 < \Delta E_5 < \Delta E_1 < \Delta E_3$, 说明涂膜隔绝氧气和水分的确可以提高甜菜红色素的热稳定性。另外, 与空白甜菜红组 ($\Delta E_7=26.84$) 相比, $\Delta E_2 < \Delta E_1$ 、 $\Delta E_4 < \Delta E_3$ 和 $\Delta E_6 < \Delta E_5$ 均表明了添加抗坏血酸与海藻酸钠的体系能提高甜菜红色素的热稳定性。对比涂布植物油或海藻酸钠-钙离子凝胶膜的方法中, ΔE_4 (16.82) 与 ΔE_6 (16.96) 接近, 表明两种方式都能达到隔水隔氧目的, 有效减少了甜菜红与水分和氧气的接触。然而, 从图 7 b_4 中观察到油膜未覆盖的位置色素损失明显, 且油膜容易流失, 并且不能在面饼上固定, 不利于实际的生产应用。综上所述, 抗坏血酸+海藻酸钠复配稳定剂和海藻酸钠-钙离子凝胶隔水隔氧膜的结合, 协同提高了甜菜红色素在面饼上的热稳定性。

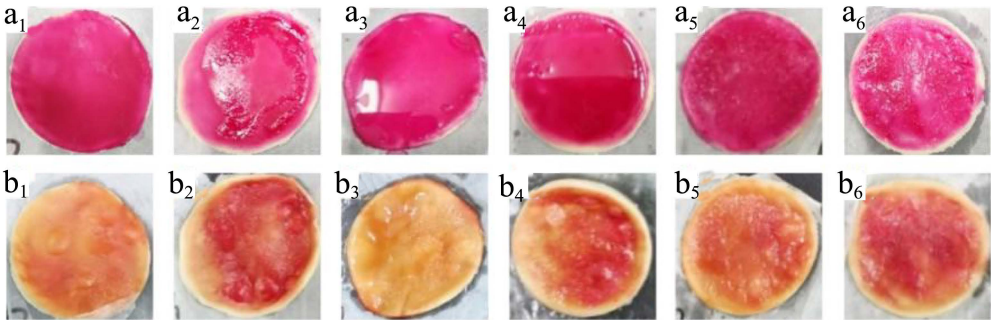


图 7 不同涂膜工艺下涂有甜菜红色素的面饼在蒸煮前后的外观

Fig.7 Appearance pictures of flatbread coated with betanin before and after cooking under different coating processes

注: (a) 蒸煮前; (b) 蒸煮后; 下标 1~6: 不同涂膜方式。

表 4 不同涂膜工艺下涂有甜菜红色素面饼的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 值

Table 4 The L^* , a^* , b^* and ΔE values of flatbread coated with betanin under different coating processes

组号	测量时间	L^*	a^*	b^*	ΔE
1	蒸前	38.63 ± 0.87	48.38 ± 0.64	14.59 ± 0.94	26.84 ± 1.59^b
	蒸后	49.00 ± 1.96	30.72 ± 0.58	31.79 ± 0.59	
2	蒸前	37.09 ± 0.49	50.61 ± 0.67	18.61 ± 0.39	21.39 ± 2.28^c
	蒸后	43.01 ± 2.27	31.05 ± 0.90	24.34 ± 1.57	
3	蒸前	41.53 ± 0.63	45.98 ± 2.19	13.62 ± 0.86	34.31 ± 1.00^a
	蒸后	51.93 ± 2.67	20.33 ± 0.30	33.62 ± 0.64	
4	蒸前	38.64 ± 0.92	46.46 ± 1.32	16.45 ± 0.59	16.82 ± 2.48^d
	蒸后	42.24 ± 2.19	32.03 ± 1.61	24.12 ± 1.00	
5	蒸前	38.84 ± 1.69	47.78 ± 0.86	15.21 ± 1.31	23.11 ± 1.77^c
	蒸后	47.85 ± 0.92	29.42 ± 2.37	25.54 ± 0.45	
6	蒸前	41.20 ± 1.53	49.38 ± 1.74	13.34 ± 2.51	16.96 ± 0.95^d
	蒸后	39.03 ± 2.42	34.29 ± 0.89	19.91 ± 1.02	

2.4 外源乳化法制备负载甜菜红色素的微胶囊

2.4.1 微胶囊的色素包埋率和保留率分析

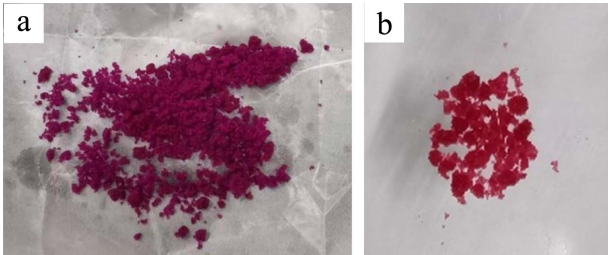


图 8 加热前 (a) 和加热后 (b) 的负载甜菜红色素的微胶囊外观图

Fig.8 Appearance of microcapsules loaded with betanin before heating (a) and after heating (b)

微胶囊包埋技术是一种将活性物质包裹在聚合物薄膜中的颗粒，主要用于保护和稳定对外部环境敏感的活性物质，并且在其形成的核-壳结构中，外壳结构的选择和制备需要根据芯材的特性来决定^[35]。根据 2.2 和 2.3 的实验结果得出：(1) 抗坏血酸和海藻酸钠复配使甜菜红色素的热稳定性最高（图 4）；(2) 涂布海藻酸钠-钙离子凝胶膜的方式也能较好地减少色素在面饼上蒸煮损失（表 4）。因此，通过外源乳化法将海藻酸钠-钙离子凝胶膜微小化，制备了包埋甜菜红色素的海藻酸钠-钙离子微胶囊^[36]。结果表明：负载甜菜红色素的微胶囊呈红色，颗粒体积小且分散均匀（图 8a），其色素包埋率为 56.42%。

为了准确地测得甜菜红色素微胶囊在蒸煮前后真实的色素保留率，采用色差法和溶出法共同评价海藻酸钠-钙离子凝胶膜包埋稳定的效

果。本实验是将甜菜红色素微胶囊颗粒均匀撒在倒扣的培养皿表面上，测得其蒸煮前后的色差值 $\Delta E=23.26$ （表 5）。与涂膜研究中 $\Delta E_0=16.96$ 相比（表 4），该 ΔE 值较大，但通过观察实际蒸煮后微胶囊颗粒仍呈红色（图 8b），且红度 a^* 值几乎不变。其原因可能是微胶囊的平面凹凸不平，色差计测量时漏光透光导致色差值偏大，所以色差法不适合单独作为判定色素稳定性的指标。因此，开发出复水溶出法，测定更真实的微胶囊中的甜菜红蒸煮前后的保留率为 68.13%（表 5）。该结果与水溶液体系（抗坏血酸+海藻酸钠+甜菜红）中的保留率为 66.23% 接近（图 4）；另外，考虑到甜菜红色素微胶囊的比表面积更大，接触的氧气和水分更多，推测其损失会更大，但二者保留率相近，表明了海藻酸钠-钙离子形成的凝胶膜结构致密，能有效降低水蒸汽和氧气的进入，有利于提高甜菜红色素的热稳定性。

2.4.2 微胶囊在面饼上的应用分析

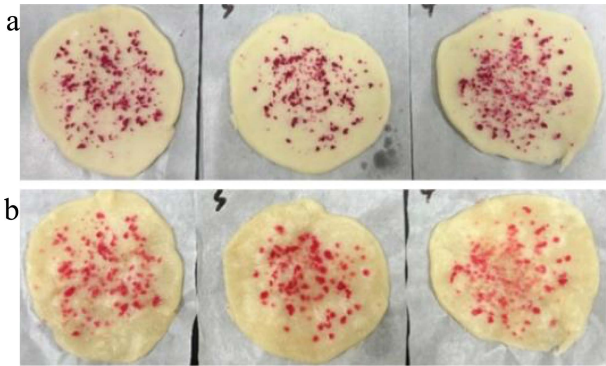


图 9 负载甜菜红色素的微胶囊在面饼上蒸煮前后的外观

Fig.9 Appearance of microcapsules loaded with betanin on flatbread before and after cooking

注：(a) 蒸煮前；(b) 蒸煮后；三组平行。

表 5 负载甜菜红色素的微胶囊在蒸煮前后的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE 值和保留率

Table 5 The L^* , a^* , b^* , ΔE values and retention rate of microcapsules loaded with betanin before and after cooking

测量时间	L^*	a^*	b^*	ΔE	保留率/%
蒸前	21.47 ± 2.47	43.42 ± 2.87	-2.30 ± 1.12	23.26 ± 2.66	68.13 ± 1.89
蒸后	32.03 ± 4.09	44.51 ± 1.81	18.25 ± 0.65		

表 6 负载甜菜红色素的微胶囊在面饼上蒸煮前后的 L^* 、 a^* 、 b^* 、和 ΔE 值

Table 6 The L^* , a^* , b^* and ΔE values of microcapsules loaded with betanin on flatbread before and after cooking

蒸煮时间	L^*	a^*	b^*	ΔE
蒸前	64.68 ± 1.73	12.15 ± 1.09	13.07 ± 0.76	12.86 ± 1.39
蒸后	59.78 ± 2.29	15.27 ± 0.89	17.05 ± 0.71	

本实验将负载甜菜红色素的微胶囊均匀的撒在面饼上,考察其在面饼上的实际应用效果,由于在面饼上无法收集微胶囊颗粒,溶出颗粒内的色素后计算质量浓度,所以利用色差法测定其蒸煮前后的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 值。如图9所示,在面饼上的微胶囊颗粒由深红变为亮红,色彩更鲜艳,其应用效果更佳。进一步测得负载甜菜红色素微胶囊在蒸煮前后的 ΔE 为12.86(表6),该值与隔绝水分和氧气的面饼 $\Delta E_4=11.64$ 相近(表3),表明了微小化的海藻酸钠-钙离子凝胶膜仍能抑制影响因素对甜菜红色素的降解。此外,该 ΔE 均小于涂膜工艺中 $\Delta E_6=16.96$ (表4),表明通过微胶囊包埋方式优于涂膜方式,其还能减少色素和凝胶膜涂布于面饼上的繁琐步骤。综上所述,利用外源乳化法制备的海藻酸钠-钙离子微胶囊包埋甜菜红色素,既提高了色素的热稳定性,又有利于推动天然色素的应用。

3 结论

本研究通过稳定剂复配和微胶囊实验,提高了甜菜红色素的热稳定性。在水溶液体系中,通过单一和复配实验得到了抗坏血酸与海藻酸钠复配组的色素热稳定性最高,保留率为66.23%。在面饼体系中发现影响甜菜红色素热稳定性因素的素中的水分、氧气和温度等环境因素,影响程度由大到小依次为:水分>氧气。在面饼表面涂抹一层热不可逆且具有隔水、隔氧能力的海藻酸钠-钙离子凝胶膜能显著提高色素的热稳定性,蒸煮前后色差值 ΔE 显著降低(16.96)。最后,利用外源乳化法制备了负载甜菜红色素的微胶囊颗粒,得出其蒸煮后的色素保留率为68.13%,并将其应用于面饼制品中,得出其蒸煮前后的色差值 ΔE 最小(12.86),且从外观观察到红色的颗粒更鲜艳,符合产品预期效果。总的来说,本研究为甜菜红色素的稳态化提供了理论支撑,并对其在面饼制品中的应用提供指导。

参考文献

- [1] 刘文卓,雷菁清,甘生智,等.红甜菜根中甜菜红色素开发利用研究进展[J].食品工业,2021,42(4):346-350.
- [2] 晏兴珠,毛琪,王仕玉,等.藜麦甜菜红素的提取优化及稳定性研究[J].食品与发酵科技,2021,57(3):44-48.
- [3] 郑学立.苋菜甜菜红素合成的生理生化与分子生物学研究[D].福州:福建农林大学,2016.
- [4] 王成.甜菜红色素的提取工艺及其理化性质研究[D].南京:南京工业大学,2003.
- [5] KHAN M I, GIRIDHAR P. Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in *Rivina humilis* L. berry juice [J]. Food Science & Technology, 2014, 58(2): 649-657.
- [6] ZHAO H, MA Z, JING P. Interaction of soy protein isolate fibrils with betalain from red beetroots: morphology, spectroscopic characteristics and thermal stability [J]. Food Research International, 2020, 135: 109289.
- [7] 蔡茜彤,段小明,冯叙桥,等.微胶囊技术及其在食品添加剂中的应用与展望[J].食品与机械,2014,30(4):247-251.
- [8] OBÓN J M, LUNA-ABAD J P, BERMEJO B, et al. Thermographic studies of cocurrent and mixed flow spray drying of heat sensitive bioactive compounds [J]. Journal of Food Engineering, 2020, 268: 109745.
- [9] MOHAMMED A N, ISHWARYA S P, NISHA P. Nanoemulsion versus microemulsion systems for the encapsulation of beetroot extract: comparison of physicochemical characteristics and betalain stability [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(1): 133-150.
- [10] PETZOLD G, GIANELLI M P, BUGUEÑO G, et al. Encapsulation of liquid smoke flavoring in ca-alginate and ca-alginate-chitosan beads [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(1): 183-190.
- [11] 李佳钺.酶解大豆蛋白-海藻酸钠复合凝聚微胶囊的制备及其性能表征[D].成都:西华大学,2020.
- [12] OWENS B F, MATHEW D, DIEPENBROCK C H, et al. Genome-wide association study and pathway-level analysis of kernel color in maize [J]. G3: Genes-Genomes-Genetics, 2019, 9(6): 1945-1955.
- [13] 郭文,黎玉茗,赵瑞峰,等.色差仪在烟用香精色泽检测中的应用[J].烟草科技,2020,53(10):73-80.
- [14] SONG H, YU W, GAO M, et al. Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 96(1): 181-189.
- [15] SABIKHI L, BABU R, THOMPSON D K, et al. Resistance of microencapsulated lactobacillus acidophilus la1 to processing treatments and simulated gut conditions [J]. Food and Bioprocess Technology, 2010, 3(4): 586-593.
- [16] HERBACH K M, STINTZING F C, CARLE R. Stability and color changes of thermally treated betanin, phyllocactin, and hydrocerein solutions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(2): 390-398.
- [17] 韩宗博,戚克进,展亚莉,等.不同食品添加剂增强2种水溶性天然色素的热稳定性[J].食品工业,2021,42(4):277-280.
- [18] QIN Y, LIU Y, ZHANG X, et al. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/

- polyvinyl alcohol films [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105410.
- [19] 李治城.黄甜菜中甜菜黄色素的稳定性及分离纯化技术研究[D].烟台:烟台大学,2021.
- [20] 刘慧,赵鹏涛,王晓宇,等.不同抗氧化剂对非浓缩还原苹果汁香气质量影响研究进展[J].食品与发酵工业,2022, 48(12):294-300.
- [21] STINTZING F C, CARLE R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition [Z]. Oxford: Elsevier Ltd, 2004: 15, 19-38.
- [22] ATTOE E L, Von ELBE J H. Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants [J]. Journal of Food Science, 1985, 50(1): 106-110.
- [23] KHAN M I. Stabilization of betalains: A review [J]. Food Chemistry, 2016, 197: 1280-1285.
- [24] HERBACH K M, STINTZING F C, CARLE R. Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(4): R41-R50.
- [25] MARCHUK M, SELIG M J, CELLI G B, et al. Mechanistic investigation via QCM-D into the color stability imparted to betacyanins by the presence of food grade anionic polysaccharides [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 226-234.
- [26] RAVICHANDRAN K, PALANIRAJ R, SAW N M M T, et al. Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(9): 2216-2221.
- [27] 郑杰,杨敏,王楠,等.天然大分子对花色苷的负载研究进展[J].食品与发酵工业,2022,48(10):290-298.
- [28] AZEREDO H M C, SANTOS A N, SOUZA A C R, et al. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract [J]. American Journal of Food Technology, 2007, 2(4): 307-312.
- [29] MATAR G H, ANDAC M. Antibacterial efficiency of silver nanoparticles-loaded locust bean gum/polyvinyl alcohol hydrogels [J]. Polymer Bulletin (Berlin, Germany), 2021, 78(11): 6095-6113.
- [30] HABIBI H, KHOSRAVI-DARANI K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017, 10: 130-140.
- [31] OTÁLORA M C, CARRIAZO J G, ITURRIAGA L, et al. Encapsulating betalains from opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: pigment chemical stability during storage of beads [J]. Food Chemistry, 2016, 202: 373-382.
- [32] BU H, KJØNIKSEN A, NYSTRÖM B. Effects of pH on dynamics and rheology during association and gelation via the Ugi reaction of aqueous alginate [J]. European Polymer Journal, 2005, 41(8): 1708-1717.
- [33] HORSTMANN S W, AXEL C, ARENDT E K. Water absorption as a prediction tool for the application of hydrocolloids in potato starch-based bread [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 81: 129-138.
- [34] 朱金花.海藻酸钠/纳米CaCO₃复含材料涂膜对冷藏草莓风味的影响[D].扬州:扬州大学,2019.
- [35] CASTRO-ENRÍQUEZ D D, MONTAÑO-LEYVA B, DEL TORO-SÁNCHEZ C L, et al. Stabilization of betalains by encapsulation-a review [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57(5): 1587-1600.
- [36] 程玉霞.基于外源乳化法的植物乳杆菌微胶囊制备及性能研究[D].杭州:浙江工商大学,2013.